



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II AREIA PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

HELOÍSA MARTINS DE ARAÚJO

INTERFERÊNCIA DA CAFEÍNA NOS ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Euborellia annulipes* (Dermaptera: Anisolabididae) E *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

**AREIA
2019**

HELOÍSA MARTINS DE ARAÚJO

**INTERFERÊNCIA DA CAFEÍNA NOS ASPECTOS BIOLÓGICOS DE
Euborellia annulipes (Dermaptera: Anisolabididae) E *Spodoptera frugiperda*
(Lepidoptera: Noctuidae)**

Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia,
do Centro de Ciências Agrárias, da
Universidade Federal da Paraíba, em
cumprimento às exigências para
obtenção do título de Engenheira
Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Jacinto de Luna
Batista.

**AREIA
2019**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663i Araujo, Heloisa Martins de.

Interferência da cafeína nos aspectos biológicos de
Euborellia annulipes (Dermaptera: Anisolabididae) E
Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) /
Heloisa Martins de Araujo. - Areia, 2019.
27 f. : il.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Comportamento. 2. Desenvolvimento. 3.
Neurotransmissores. 4. Toxicidade. I. Título

UFPB/CCA-AREIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE AGRONOMIA

DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO


Aprovada em 21/10/2019.

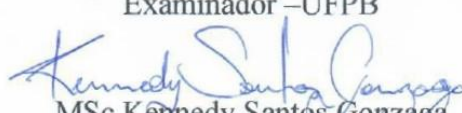
**“INTERFERÊNCIA DA CAFEÍNA NOS ASPECTOS BIOLÓGICOS DE
EUBORELLIA ANNULIPES (DERMAPTERA: ANISOLABIDIDAE) E
SPODOPTERA FRUGIPERDA (Lepidoptera: Noctuidae)”**

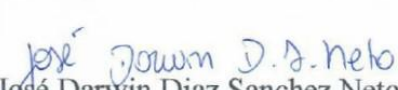
Autora: **HELOÍSA MARTINS DE ARAÚJO**


Banca Examinadora:


Prof. Dr. Jacinto de Luna Batista
Orientador


MSc. Gemerson Machado de Oliveira
Examinador –UFPB


MSc. Kennedy Santos Gonzaga
Examinador –UFPB


José Darwin Diaz Sanchez Neto
Secretário da SIAG


Prof. Bruno de Oliveira Dias
Coordenador do Curso

Prof. Bruno de Oliveira Dias
Coordenador Agronomia-CCA/UFPB
Mat. SIAPE 1974814

*A minha mãe, Lúcia Martins, por viver
esse sonho comigo.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, energia que renova todas minhas forças, por iluminar toda trajetória, por nunca desamparar-me, que sempre regeu meus passos durante toda essa caminhada.

À minha mãe, o ser humano mais extraordinário que conheço, dona de um coração imenso, que não cabe em si. Um presente que Deus na sua infinita bondade me concedeu. Aquela que me faz ser alguém melhor, um exemplo de mulher. Obrigada por todo amor, dedicação e esforço, sem a senhora eu nada seria. A ti, toda admiração do mundo.

A toda minha família, o ponto de equilíbrio do qual me encontro, pela força, por estarem sempre presentes apoiando minhas decisões. Aqueles por quem me orgulho e se orgulham de mim.

À minha amiga de infância, Ianna Herculano, por todo carinho, amizade e companheirismo. Minha irmã de coração.

A turma do qual faço parte, Agronomia 2014.2 por dividirem comigo essa trajetória. E em meio a tantas diferenças, compartilharam deste sonho em comum com familiaridade, guardarei sempre no meu coração os bons momentos. Em especial Ester Coelho, Ewerton Barbosa, Nathália Kelly e Josias Jerônimo, bons amigos que alegraram meus dias e estiveram juntos diante de todas dificuldades, amizade que permanecerá sempre. Gratidão a todos vocês.

A todo companheirismo daqueles que fazem parte do Laboratório de Entomologia, uma verdadeira família. O local de trabalho mais aconchegante, que tornou-se minha segunda casa. Aqui destaco Letícia Barbosa, Gemerson Machado, Kennedy Gonzaga e Sr. Nino. Inclusive aqueles que por aqui já passaram, Antônio Carlos e Izabela Nunes.

Aos petianos, pelas boas histórias que até aqui construímos, pelos bons momentos, convívio e aprendizado do qual compartilhamos.

A meu orientador e tutor do PET, Prof. Jacinto de Luna Batista, pela cordialidade, paciência e amizade. Pessoa pelo qual tenho admiração e um carinho imenso.

E a todos que de certa forma contribuíram para minha formação profissional.

Muito Obrigada!

*“Ninguém pode construir em teu lugar
as pontes que precisarás passar,
para atravessar o rio da vida –
ninguém, exceto tu, só tu.”*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

A cafeína é um alcalóide purina de baixo peso molecular. Pode ter efeito positivo ou negativo, há depender da concentração e frequência de utilização. Pode atuar de maneira patológica, a retardar desde o crescimento, desenvolvimento e reprodução, até mesmo causar paralisia ou morte nos insetos, variando conforme a dosagem aplicada. Objetivou-se nessa pesquisa, avaliar os efeitos de diferentes concentrações de cafeína adicionadas à dieta artificial sobre o comportamento e aspectos biológicos de *Euborellia annulipes* e de *Spodoptera frugiperda*. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (LEN/UFPB), Campus II, Areia-PB. A substância cafeína utilizada nos ensaios experimentais foi da marca comercial Nutrata® com concentração de 210 mg por cápsula. As espécies utilizadas nos experimentos foram *E. annulipes* e *S. frugiperda*, provenientes de criação já estabelecida no próprio laboratório. A cafeína foi adicionada à dieta das ninfas de *E. annulipes* nas concentrações de: 0; 1; 2; 3 e 4% e na dieta para lagartas de *S. frugiperda* nas concentrações de: 0; 0,5; 1; 2 e 3%. Para *E. annulipes* observou-se que nos tratamentos com concentrações de até 3% da cafeína houve menor mobilidade dos insetos. No tratamento com concentração de 4%, os insetos apresentaram comportamento atípico, ocorrendo frequência de canibalismo, também nessa concentração, observou-se prolongamento do período ninfal. Avaliando-se a relação da concentração de cafeína e tempo de alimentação por lagartas de *S. frugiperda*, observou-se uma interação proporcional entre esses parâmetros. A DL 50 estimado na avaliação da ação da cafeína sobre a *S. frugiperda* é de 1,18%. A cafeína adicionada à dieta para as fases imaturas de *E. annulipes* e *S. frugiperda* provoca alterações de comportamento e interfere nas características biológicas dessas espécies.

Palavras-chave: Comportamento, desenvolvimento, neurotransmissores, toxicidade.

ABSTRACT

Caffeine is a low molecular weight purine alkaloid. May have positive or negative effect, depending on concentration and frequency of use. It can act pathologically, delaying growth, development and reproduction, even causing paralysis or death in insects, varying according to the dosage applied. The objective of this research was to evaluate the effects of different caffeine concentrations added to artificial diet on the behavior of biological aspects of *Euborellia annulipes* and *Spodoptera frugiperda*. The research was developed at the Agricultural Entomology Laboratory of the Center for Agricultural Sciences of the Federal University of Paraíba (LEN / UFPB), Campus II, Areia-Pb. The caffeine substance used in the experimental tests was a trademark Nutrata® with a concentration of 210 mg per capsule. The species used in the experiments *E. annulipes* and *S. frugiperda*, came from breeding already established in the laboratory itself. Caffeine was added to the diet of *E. annulipes* nymphs at concentrations of: 0; 1; 2; 3 and 4% and in the diet for *S. frugiperda* caterpillars in the concentrations of: 0; 0.5; 1; 2 and 3%. For *E. annulipes* it was observed that treatments with concentrations of up to 3% of caffeine had lower insect mobility. In the treatment with concentration of 4%, the insects showed atypical behavior, occurring frequency of cannibalism, also in this concentration, was observed prolongation of the nymphal period. Evaluating the relationship between caffeine concentration and feeding time by *S. frugiperda* caterpillars, a proportional relationship between these parameters is observed. The estimated LD 50 in the evaluation of caffeine action on *S. frugiperda* is 1.18%. Caffeine added to the diet for the immature phases of *E. annulipes* and *S. frugiperda* causes behavioral changes and interferes with the biological characteristics of these species

Keywords: Behavior, development, neurotransmitters, toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mudança de instar de *Euborellia annulipes* após tratamentos: 1° - 2° (A), 2° - 3° (B), 2° - 3° (C), 3° - 4° (D), 4° - 5° (E), 4° - 5° (F), 5° - fase adulta (G) e 5° - fase adulta (H).....20

Figura 2: Curva de mortalidade e DL50 de *Spodoptera frugiperda* quando alimentada com dieta sob diferentes concentrações de cafeína em função do tempo.....22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição de dieta artificial proposta por Lemos (1997) para alimentação de *E. annulipes*.....15

Tabela 2: Composição de dieta artificial proposta por Nalim (1991) para alimentação de *S. frugiperda*.....16

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. METODOLOGIA..... | 15 |
| 2.1 Criação do predador <i>Euborellia annulipes</i> | 15 |
| 2.2 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i> | 16 |
| 2.3 Administração da cafeína na dieta de <i>Euborellia annulipes</i> | 17 |
| 2.4 Administração da cafeína na dieta de <i>Spodoptera frugiperda</i> | 17 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 18 |
| 3.1 Efeito da cafeína sobre <i>Euborellia annulipes</i> | 18 |
| 3.1.1 Ação da cafeína no comportamento de <i>Euborellia annulipes</i> | 18 |
| 3.1.2 Ação da cafeína no desenvolvimento ninfal de <i>Euborellia annulipes</i> | 19 |
| 3.1.3 Ação da cafeína na capacidade de postura de <i>Euborellia annulipes</i> | 21 |
| 3.2 Efeito da cafeína sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> | 21 |
| 4. CONCLUSÃO..... | 23 |
| 5. REFERENCIAS | 23 |

1. INTRODUÇÃO

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcalóide purina de baixo peso molecular, substância natural encontrado em folhas, sementes e frutos de cerca de sessenta espécies, sendo as mais comuns a *Coffea canefora* e *Coffea arabica* (Liu, 2017). É a substância psicoativa mais popular do mundo, com mais de 120.000 toneladas consumidas anualmente, pode ser encontrada em bebidas, produtos fitoterápicos, medicamentos prescritos e de venda livre e ainda na forma sintética. É utilizado como estimulante do sistema nervoso central, diurético e em vários compostos de medicação analgésica e fria. Após ingerida esta substância é rapidamente absorvida com o início dos efeitos clínicos ocorrendo dentro de 1 hora. A toxicidade manifesta-se além do sistema nervoso central, no sistema cardiovascular e sistema gastrointestinal (Holstege, 2014).

A cafeína pode estimular a atividade dopaminérgica (Ferré, 2008). Sendo a dopamina, um importante neurotransmissor que conserva papéis no controle do movimento, prazer, motivação, excitação e memória entre animais invertebrados e vertebrados. É fundamental para processos importantes que envolvem formação do exoesqueleto de insetos e função imunológica (Verlinden, 2018). Além do efeito da cafeína sobre os receptores de adenosina, estudos também sugeriram que a paraxantina, principal metabólito da cafeína em humanos, produz atividade locomotiva aumentada, bem como um efeito inibitório da fosfodiesterase, que por sua vez, resulta em aumento dos níveis extracelulares de dopamina (Orrú et al., 2013). Em ratos, constatou-se atraso no desenvolvimento fetal e altas taxas de mortalidade (Pollack et al., 2009). Efeitos genéticos deletérios também foram descritos como sendo devidos ao efeito da cafeína, incluindo mutações gênicas e aberrações cromossômicas (Hansson et al., 1982)

O efeito da cafeína na fisiologia e comportamento dos animais é amplamente estudado em invertebrados e vertebrados (Chen et al., 2008), estes possuem neurotransmissores similares aos mamíferos (Stankiewicz, 2012). Trabalhos realizados com *Apis mellifera*, demonstraram que a cafeína modula o aprendizado e a memória, afetando especificamente o desempenho durante a aquisição, mas não nos processos envolvidos na formação da memória de longo prazo (Mustard et al., 2012). Em *Drosophila* a administração de cafeína prolongou o período circadiano (Wu et al., 2009).

A cafeína pode ter efeito positivo ou negativo, há depender da concentração e frequência de utilização. É um composto nitrogenado (substância alcalóide), tendo ampla distribuição na natureza, ocorrendo no maior número de famílias, é uma purina (neurotransmissor) que exerce ações específicas no sistema nervoso, bloqueando a adenosina (neuromodulador que atua na supressão da excitação). É inerente as diferentes espécies. Podendo atuar de maneira patológica, a retardar desde o crescimento, desenvolvimento e reprodução, até mesmo causar paralisia ou morte nos insetos, variando conforme a dosagem aplicada. Os alcalóides podem funcionar de forma fagorrepelente ou fagoestimulante, há depender da espécie. Atuando também sobre inimigos naturais, predadores e parasitoides. A maioria dos testes com substâncias alcalóides são feitas utilizando baixas concentrações, menores inclusive que as quantidades encontradas de forma natural nas plantas, servindo desta forma como outros aleloquímicos, como compostos de defesa e sinal. Sendo assim, espécies vegetais contendo esta substância podem limitar a presença de indivíduos, alterar o comportamento e apresentar seletividade (Levinson, 1976; Lara, 1991; Wink, 1998 Caravan, 2016).

A tesourinha *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847) é um inseto pertencente a ordem Dermaptera e família Anisolabididae. Apresenta coloração preta e/ou castanha-escura, antenas com artículos distais brancos, fêmures amarelados, com uma faixa mediana castanha, pronoto mais longo que largo e fórceps curtos, assimétricos nos machos. As ninfas e adultos apresentam grandes semelhança, podendo ser diferenciados pela quantidade de segmentos das antenas (Guimarães et al., 1992). A oviposição de *E. annulipes* geralmente ocorre à noite e são depositados uma média de 23 ovos em cada postura. Algumas fêmeas podem realizar até quatro posturas em noites sucessivas. O período de incubação dos ovos é de 6 a 7 dias a uma temperatura de 20–29°C. Nesta temperatura, a tesourinha apresenta cinco estádios ninfais, em alguns casos excepcionais seis (Silva et al., 2009).

Essa espécie apresenta grande potencial de uso em programas de controle biológico de diversos insetos-pragas, por apresentar como características polifagia, facilidade de criação, tendo sua capacidade de predação comprovada em diversos Lepidópteros como por exemplo em ovos e lagartas de *Spodoptera frugiperda* J. E Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Silva et al., 2009), espécie que ocorre em níveis populacionais elevados nos principais cultivos agrícolas do Brasil.

A lagarta *Spodoptera frugiperda* é um inseto-praga que destaca-se pela grande amplitude hospedeira, sua presença é registrada em mais de 80 espécies vegetais, em algumas delas ocorre na forma de hospedeira alternativa. Esta lagarta causa perdas consideráveis sobretudo nas plantas pertencentes a família das Poaceas, principalmente no milho, em que alimenta-se da planta em todas as fases de crescimento, porém, tem preferência pelo cartucho, recebendo assim o nome de lagarta-do-cartucho, que além da redução da produtividade, reduz a qualidade do produto final. Seus surtos também elevam as perdas na soja, algodão e algumas Solanáceas (Busato et al., 2002; Capinera 2008; Giolo et al., 2002; Pogue 2002).

A principal forma de controle da *Spodoptera frugiperda* dá-se através de produtos químicos sintéticos, que aumentam os custos de produção e por vezes não são seletivos aos seus inimigos naturais (Lima et al., 2008; Toscano et al. 2012). Através disto e acentuada pela demanda da redução de resíduos nos alimentos e presença de populações resistentes a inseticidas químicos, há uma expansão na busca por alternativas que sejam efetivas no controle deste inseto-praga e que reduza o uso destes produtos. É fato que o uso de produtos biológicos e inseticidas naturais continuam a aumentar (Dayan; Cantrell; Duke, 2009).

Entre os inseticidas naturais, estão os óleos essenciais, produzidos através da destilação a vapor de plantas aromáticas, apresentam um grande espectro de ação (Akhtar; Yeoung; Isman, 2008). Os extratos vegetais contêm diversas substâncias oriundas dos produtos intermediários ou finais do metabolismo secundário de plantas, ocorrendo desde a raiz até as folhas. Estas substâncias podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis, repelência, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento são alguns deles (Medeiros, 1990). Além destes, o uso de produtos entomopatógenos e inimigos naturais, destacam-se como forma de controle alternativo deste inseto-praga, podendo plenamente ser adotados em Programas de Manejo Integrado (Silva; Beserra; Dantas, 2008).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de cafeína adicionadas à dieta artificial sobre o comportamento e aspectos biológicos de *Euborellia annulipes* e toxicidade e mortalidade de *Spodoptera frugiperda*

2. METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (LEN/UFPB), Campus II, Areia-Pb.

A substância cafeína utilizada nos ensaios experimentais foi da marca comercial Nutrata® com concentração de 210 mg de cafeína por cápsula. As espécies de insetos utilizadas nos experimentos foram: o inseto predador *Euborellia annulipes* Lucas (Dermaptera: Anisolabididae) e o inseto fitófago *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), ambas de criação já estabelecida no próprio laboratório

2.1 Criação do predador *Euborellia annulipes*

Os insetos foram mantidos em caixas plásticas retangulares e transparentes, de 22,5 x 15,0 x 6,0 cm, fechadas com tampa apresentando um orifício com diâmetro 2,5 cm e vedado com tecido tipo “voil”. Na base delas, colocadas folhas em camadas de papel tipo absorvente, com aproximadamente 2 cm de altura. Diariamente, a camada de papel foi umedecida com água filtrada, para que a umidade e oxigenação fossem mantidas dentro do padrão estabelecido para desenvolvimento e reprodução da espécie. Semanalmente, era realizada a troca do papel e transferência das fêmeas com as suas respectivas posturas para placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de altura. Os adultos e as ninfas de *E. annulipes* eram alimentadas com dieta artificial proposta por Lemos (1997), cuja composição está discriminada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição de dieta artificial proposta por Lemos (1997) para alimentação de *Euborellia annulipes*.

| Componente | Quantidade (g) |
|------------------------------------|----------------|
| Leite em pó | 130 |
| Levedo de cerveja | 220 |
| Farelo de trigo | 260 |
| Ração inicial para frango de corte | 350 |
| Nipagin | 40 |

2.2 Criação de *Spodoptera frugiperda*

Os adultos eram mantidos em gaiolas de PVC (cloreto de polivinila) de 20 cm de diâmetro por 20 cm de altura revestido internamente com papel sulfite, com a extremidade superior coberta por tecido “voil” onde eram alimentados com solução contendo água e mel a 10% e na parte inferior por material plástico, sendo determinado o número de 10 casais por gaiola.

Quando ocorria oviposição, estas eram observadas e após eclosão, as lagartas neonatas eram postas individualmente em tubos de vidro de fundo chato de 2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de comprimento, previamente esterilizados, contendo dieta artificial segundo metodologia estabelecida por Nalim (1991) conforme descrita na Tabela 2. Os tubos foram tamponados com algodão e mantidos em câmara climatizada tipo B.O.D, até a fase de pupa.

Tabela 2. Composição de dieta artificial proposta por Nalim (1991) para alimentação de *Spodoptera frugiperda*.

| Componente | Quantidade |
|--------------------------------|------------|
| Feijão (variedade carioquinha) | 165 g |
| Gérmen de trigo | 79,20 g |
| Levedo de cerveja | 50,50 g |
| Ácido ascórbico | 5,10 g |
| Ácido sórbico | 1,65 g |
| Formaldeído 10% | 1 ml |
| Ágar | 25,50 g |
| Água | 1195 ml |

2.3 Administração da cafeína na dieta de *Euborellia annulipes*

Para avaliação do efeito da cafeína sobre *Euborellia annulipes* foram utilizadas ninfas de 1º instar, e adicionadas doses crescentes de acordo com o tratamento (½; 1; 1 ½ e 2 cápsulas) onde foram devidamente pesadas e cada uma adicionada à 10 gramas de dieta, resultando nas concentrações de 1, 2, 3 e 4% da substância mais o tratamento controle (0%) contendo apenas dieta.

Para os cinco tratamentos, utilizou-se 10 repetições com 10 insetos cada, totalizando 500 insetos. Estes foram postos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro por 2 cm de altura, com papel umedecido e alimentação seguindo as concentrações pré estabelecidas para cada tratamento e mantidos em B.O.D. (Temperatura de $25,0 \pm 1$ °C, UR de $70 \pm 10\%$ e Fotofase de 12 horas).

Durante os 7 primeiros dias de experimento, realizaram-se observações relativas ao comportamento, se os insetos estavam alimentando-se, ativos e mantendo seus padrões normais. Após esse período, as avaliações passaram a ser realizadas a cada 7 dias para observar se os insetos haviam mudado de instar, até que os mesmos completassem seu ciclo de vida.

Durante todos os dias, o papel foi devidamente umedecido, feita reposição da dieta, contagem dos insetos e observada a presença da exúvia, quando havia dúvida sobre o estágio do ciclo de vida do indivíduo, o mesmo era posto na lupa para contagem dos segmentos da antena.

Para análise estatística referente ao tempo de desenvolvimento e mudança de instar em função dos intervalos das avaliações foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, aplicando-se a análise de variância e posteriormente o teste de Tukey para comparação das médias.

2.4 Administração da cafeína na dieta de *Spodoptera frugiperda*

Para este experimento, a dieta foi feita como proposto e dividida em porções iguais para adição das doses cafeína, resultando em quatro concentrações: 0,5; 1; 2 e 3% mais o tratamento controle, (0%) após o preparo, as mesmas foram colocadas nos tubos, onde posteriormente depositaram-se as lagartas recém-eclodidas de forma individual.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quinze repetições de um inseto (5 x 15 x 1).

Avaliou-se a mortalidade de *Spodoptera frugiperda* nos intervalos de 24, 48, 72 e 96 horas após a montagem do bioensaio. Os resultados foram submetidos a análise de variância com distribuição binomial link log it e através deste observado o efeito da cafeína em função de tempo e dose, posteriormente sendo estabelecida a DL50.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da cafeína sobre *Euborellia annulipes*

3.1.1 Ação da cafeína no comportamento de *Euborellia annulipes*

Com relação aos tratamentos com concentrações de 2,0 e 3,0% de cafeína, inicialmente houve menor mobilidade dos insetos, tendendo estes a passar maior parte do tempo entre as camadas do papel, imóveis, diferente da testemunha em que os indivíduos locomoviam-se e alimentavam-se com maior frequência. Com o passar dos dias este comportamento foi normalizado, os indivíduos demonstraram maior atividade, permanecendo desta forma até a fase adulta. No tratamento com a maior concentração (4,0%), os insetos apresentaram comportamento atípico, mostravam-se hiperativos, ocorrendo também frequência de canibalismo.

Da Silva *et al.*, (2018) observaram que em dietas suplementadas com cafeína nas concentrações de 1,0 e 2,5 mg/g houve aumento significativo na frequência de imobilidade da barata *Nauphoeta cinerea*, (Blattodea:Blaberidae) embora quando alimentadas com doses maiores exibiram aumento significativo na distância total percorrida e na velocidade média, indicando aumento no desempenho locomotor. Enquanto que Silvério (2008) em seu experimento observou que as larvas de *Sarconesia chlorogaste* (Diptera:Calliphoridae) tratadas com cafeína apresentaram um comportamento incomum em que na maioria das vezes não agrupavam-se e não apresentavam fotofobia. Pollack; Balazs e Ogunseitan (2009), estudando o efeito da cafeína, concluíram que esta substância pode causar efeitos de stress, podendo ser acentuado por fatores ambientais, a exemplo da mudança de temperatura. Justificando através destes, o diferente comportamento de *E. annulipes* sob efeito das concentrações de cafeína na dieta.

3.1.2 Ação da cafeína no desenvolvimento ninfal de *Euborellia annulipes*

Para verificar a ação da cafeína sobre o estágio ninfal de *E. annulipes*, realizou-se uma comparação dos dados referentes ao tempo de mudança de instar. Constatando que houve diferença significativa ($P=0,0391$) a 5% pelo teste F para os tratamentos no tempo de 14 dias (Figura 1A), embora que pelo teste de Tukey não tenha sido significativo. Os demais apresentaram significância a 1% pelo teste F ($P < 0,0001$) e teste Tukey.

Observa-se que na primeira análise (Figura 1A) logo após os 7 dias, houve diferenças dos tratamentos em relação a testemunha, principalmente quando comparados aos tratamentos 4 e 5. Durante todas as análises observou-se que o tratamento que mais afetou a *E. annulipes* foi a adição da concentração de 4%, os insetos apresentaram um grande atraso na taxa de mudança de instar. Seguindo pelo tratamento com dieta na concentração de 3% que a partir dos 35 dias (Figura 1E) apresentou percentuais semelhantes ao 5º tratamento.

O efeito da cafeína foi evidenciado relacionando-se o momento em que a testemunha alcançou a fase adulta (Figura 1G) e nos demais tratamentos todos os insetos ainda permaneciam no período ninfal. As diferenças entre a porcentagem de mudança de instar aumentaram com o tempo, indicando que a cafeína prolongou o período ninfal do inseto de acordo com o aumento da concentração na dieta. Semelhante ao que foi observado por Maguire (2017), quando alimentando de forma forçada as larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera:Pyralidae) com cafeína, houve diminuição de forma significativa da viabilidade larval e prolongamento da fase jovem. Assim como Hewavitharanage (1999) concluiu que cafeína atrasou significativamente o aparecimento de cada estágio do desenvolvimento no ciclo de vida do besouro *Xyleborus fornicatus* (Coleoptera:Curculionidae).

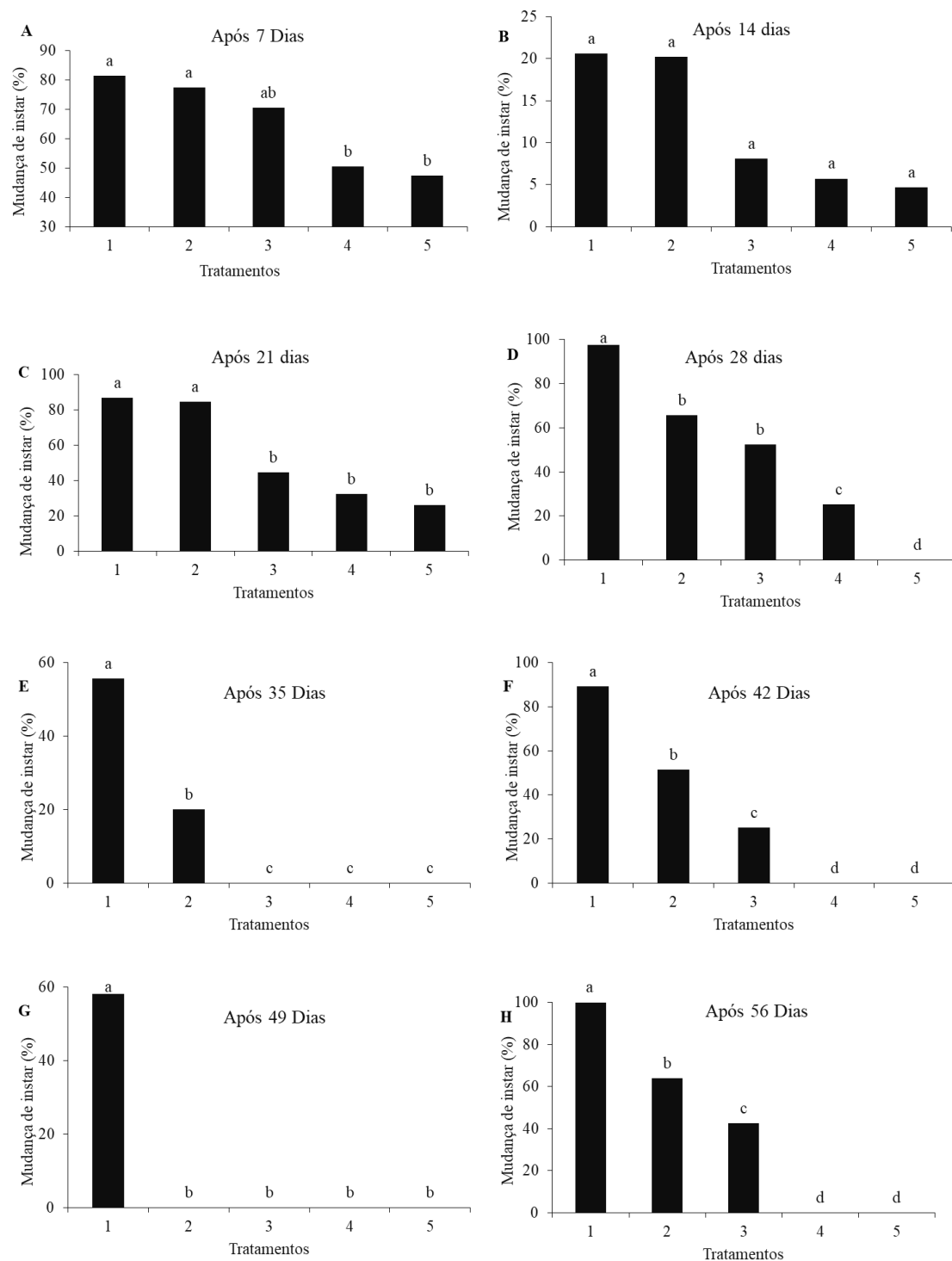


Figura 1: Mudança de instar de *Euborellia annulipes* após tratamentos: 1° - 2° (A), 2° - 3° (B), 2° - 3° (C), 3° - 4° (D), 4° - 5° (E), 4° - 5° (F), 5° - fase adulta (G) e 5° - fase adulta (H).

3.1.3 Ação da cafeína na capacidade de postura de *Euborellia annulipes*

A presença de postura foi observada nos tratamentos com 1 e 2% de concentrações, ainda que nestas duas tenha ocorrido de forma tardia quando comparado a testemunha (0%) justificado pelo atraso ao alcance da fase adulta destes. Todas as posturas apresentaram-se viáveis, com gerações subsequentes normais, apesar de que no tratamento 2 tenha ocorrido em maior número e frequência. Em estudo realizado por Laranja *et al.*, (2006) com *Aedes Aegypti* (Diptera:Culicidae), demonstrou-se que sob concentrações de 200 mg/g de cafeína ocorreu uma maior produção de ovos, enquanto que na dose de 500 mg/g houve menor produção. Bernegossi (2019) observou o efeito de toxicidade crônica da cafeína, onde afetou o desenvolvimento, crescimento e reprodução das larvas de *Chironomus sancticaroli* (Diptera:Chironomidae) e em *Daphnia magna* (Cladocera:Daphniidae) foi constatado indução da produção de posturas e retardo do processo de ecdise, além de mudanças nos padrões de desenvolvimento larval.

3.2 Efeito da cafeína sobre *Spodoptera frugiperda*

Verificou-se efeito altamente significativo na análise de variância no tempo e dosagem ($P < 0,001$). Havendo interação positiva entre esses dois, pois em função do prolongamento do tempo o efeito da concentração torna-se mais evidente. Desta forma, o efeito da substância e o tempo apresentam forte interação.

A partir do resultado de análise de variância, foi calculado o DL 50 médio, ou seja, a concentração de cafeína necessária para causar mortalidade em 50% dos insetos. Quando considera-se apenas a concentração da substância e a quantidade de insetos afetados, o DL 50 tem o valor de 1,18%, mas, como os fatores apresentam interação positiva e pelo fato da cafeína ter seu efeito aumentado em função do período da ingestão, o DL 50 às 24 horas tem valor de 2,2% ou 2 % (dentro do intervalo de confiança) e nos demais variando próximo a 1%, pelo fato das linhas mostrarem-se muito próximas como observado na figura 2.

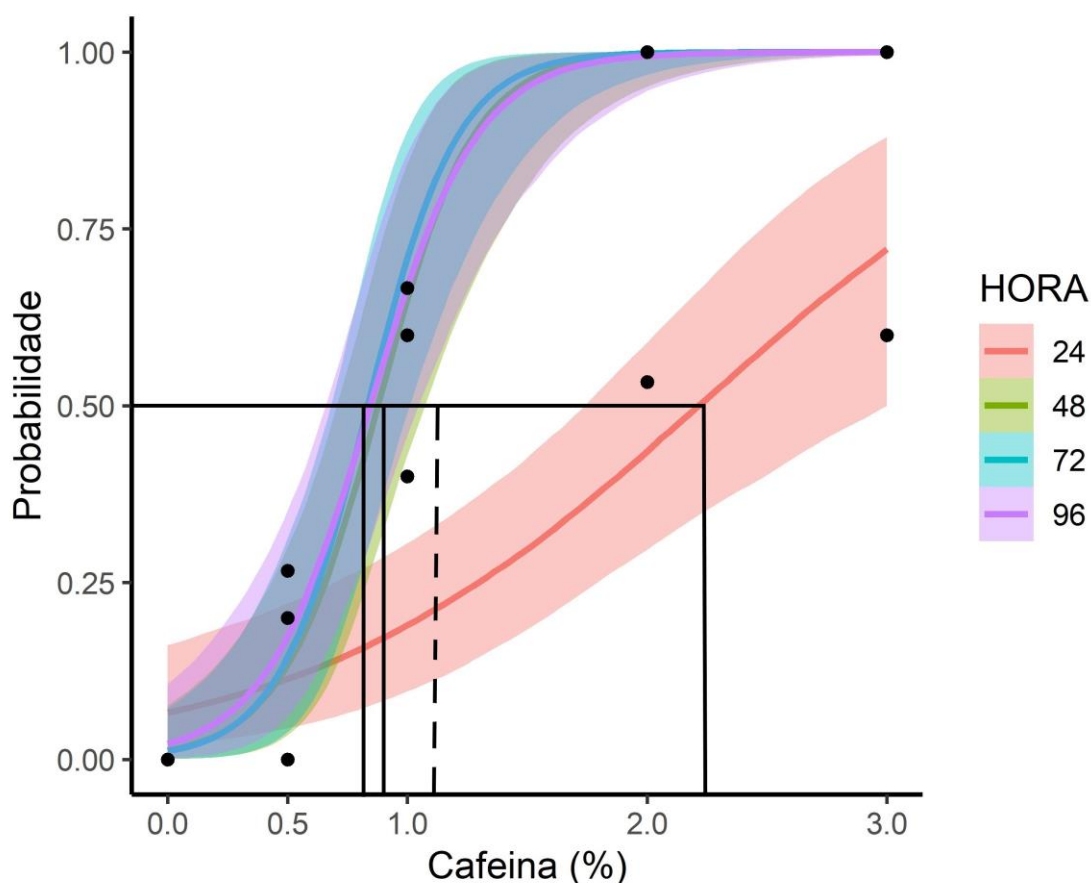


Figura 2: Curva de mortalidade e DL50 de *Spodoptera frugiperda* quando alimentada com dieta sob diferentes concentrações de cafeína em função do tempo.

Sehgal; Simões e Jurand (1977) documentaram fato da cafeína causar grave retardo de crescimento e altas taxas de mortalidade das larvas de *Telmatoscopus albipunctatus* (Diptera:Psychodidae) e *Drosophila melanogaster* (Diptera:Drosophilidae) sugerindo que este efeito tenha sido causado pelo retardo na síntese de DNA.

O efeito tóxico desta substância já havia sido relatado por Nathanson (1984) quando observou que as concentrações de 0,68% e 2,1% de cafeína em relação ao peso seco de folhas de chá e café, foram suficientes para matar um grande número de lagartas de *Manduca sexta* (Lepidoptera:Sphingidae). Laranja *et al.*, (2003) explica que esta substância intoxica as larvas de *Aedes Aegypti* (Diptera:Culicidae) causando o bloqueio do seu desenvolvimento, levando-as à morte, segundo ela a cafeína atua de forma dose dependente (quanto maior a dose, maior e mais precoce é o efeito), sendo a concentração de 300 mg/mL de água letal para as larvas, causando 100% de mortalidade. Enquanto que em adultos, o número de ovos depositados em cada nova

geração foi afetado de maneira diferente nos testes contendo cafeína quando comparado ao tratamento controle, sendo o efeito da substância aumentando nas gerações seguintes, afetando cada vez mais a produção de descendentes adultos e a taxa de oviposição, concluindo que o efeito da cafeína é intensificado com o passar do tempo, portanto, acumulativo no inseto.

4. CONCLUSÃO

A cafeína afetou o desenvolvimento e ciclo biológico de *Euborellia annulipes*;

A cafeína tem efeito tóxico sobre a *S. frugiperda*, sendo necessária uma concentração de 1,18% para matar 50% da população, independente do tempo de consumo na dieta.

A cafeína, nas concentrações e na forma que foi utilizada não é uma substância seletiva a *Euborellia annulipes* e apresenta potencial tóxico à *Spodoptera frugiperda*.

5. REFERENCIAS

Akhtar, Y., Yeoung, Y. R., & Isman, M. B. (2008). Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 77-88.

Bernegossi, A. C. (2019). *Efeito tóxico da cafeína sobre o ciclo de vida de Chironomus sancticaroli (Chironomidae, Diptera) e Daphnia magna (Daphniidae, Cladocera)* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Busato, G. R., Grützmacher, A. D., Garcia, M. S., Giolo, F. P., & Martins, A. F. (2002). Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. *Neotropical Entomology*, 31(4), 525-529.

Capinera, J. L. (Ed.). (2008). *Encyclopedia of entomology*. Springer Science & Business Media.

Caravan, I., Sevastre Berghian, A., Moldovan, R., Decea, N., Orasan, R., & Filip, G. A. (2016). Modulatory effects of caffeine on oxidative stress and anxiety-like behavior in

ovariectomized rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 94(9), 961-972.

Chen, Y. H., Huang, Y. H., Wen, C. C., Wang, Y. H., Chen, W. L., Chen, L. C., & Tsay, H. J. (2008). Movement disorder and neuromuscular change in zebrafish embryos after exposure to caffeine. *Neurotoxicology and teratology*, 30(5), 440-447.

da Silva, C. S., de Lima, R. D. C. G., Elekofehinti, O. O., Ogunbolude, Y., Duarte, A. E., Rocha, J. B. T., & Kamdem, J. P. (2018). Caffeine-supplemented diet modulates oxidative stress markers and improves locomotor behavior in the lobster cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Chemico-biological interactions*, 282, 77-84.

Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4022-4034.

Ferré, S. (2008). An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. *Journal of neurochemistry*, 105(4), 1067-1079.

GIOLO, F., Grutzmacher, A., Garcia, M., & Busato, G. (2002). Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. *Current Agricultural Science and Technology*, 8(3).

Guimarães, J. H. (1992). Demaptera (Insecta) associados a aviários industriais no estado de São Paulo e sua importância como agentes de controle biológico de pragas avícolas. *Revta bras. Ent.*, 35, 527-534.

Hewavitharanage, P., Karunaratne, S., & Kumar, N. S. (1999). Effect of caffeine on shot-hole borer beetle (*Xyleborus fornicatus*) of tea (*Camellia sinensis*). *Phytochemistry*, 51(1), 35-41.

Holstege, C. P., & Holstege, E. (2014). Caffeine.

Lara, F. M. (1991). Princípios de resistência de plantas a insetos.

Laranja, A. T., Manzato, A. J., & de Campos Bicudo, H. E. M. (2006). Efeito da cafeína sobre a mortalidade e oviposição em gerações sucessivas de *Aedes aegypti*. *Revista de Saúde Pública*, 40(6), 1112-1117.

Levinson, H. Z. (1976). The defensive role of alkaloids in insects and plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 32(4), 408-411.

- Lima, J. F. M., Grützmacher, A. D., da Cunha, U. S., Porto, M. P., da Silva Martins, J. F., & Dalmazo, G. O. (2008). Ação de inseticidas naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em agroecossistema de várzea. *Ciência Rural*, 38(3), 607-613.
- Liu, Q. S., Deng, R., Fan, Y., Li, K., Meng, F., Li, X., & Liu, R. (2017). Low dose of caffeine enhances the efficacy of antidepressants in major depressive disorder and the underlying neural substrates. *Molecular nutrition & food research*, 61(8), 1600910.
- Maguire, R., Kunc, M., Hyrs, P., & Kavanagh, K. (2017). Caffeine administration alters the behaviour and development of *Galleria mellonella* larvae. *Neurotoxicology and teratology*, 64, 37-44.
- MEDEIROS, A. D. (1990). Alelopatia: importância e suas aplicações. *Horti Sul*, 1(3), 27-32.
- Mustard, J. A., Dews, L., Brugato, A., Dey, K., & Wright, G. A. (2012). Consumption of an acute dose of caffeine reduces acquisition but not memory in the honey bee. *Behavioural brain research*, 232(1), 217-224.
- Nathanson, J. A. (1984). Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science*, 226(4671), 184-187.
- Orrú, M., Guitart, X., Karcz-Kubicha, M., Solinas, M., Justinova, Z., Barodia, S. K., ... & Moeller, F. G. (2013). Psychostimulant pharmacological profile of paraxanthine, the main metabolite of caffeine in humans. *Neuropharmacology*, 67, 476-484.
- Pollack, K., Balazs, K., & Ogunseitan, O. (2009). Proteomic assessment of caffeine effects on coral symbionts. *Environmental science & technology*, 43(6), 2085-2091.
- Pogue, M. G. (2002). A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée:(Lepidoptera: Noctuidae).
- Sehgal, S. S., Simões, L. C. G., & Jurand, A. (1977). EFFECTS OF CAFFEINE ON GROWTH AND METAMORPHOSIS OF MOTH FLY TELMATOSCOPIUS ALBIPUNCTATUS (DIPTERA, PSYCHODIDAE). *Entomologia experimentalis et Applicata*, 21(2), 174-181.

- Silva, A. B. D., Batista, J. D. L., & Brito, C. H. D. (2009). Capacidade predatória de *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797). *Acta Scientiarum. Agronomy*, 31(1), 7-11.
- Silva, A. B., Beserra, E. B., & Dantas, J. P. (2008). Utilização de *Metarhizium anisopliae* e extratos vegetais para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Engenharia Ambiental*, 5(1).
- Silvério, R. A. (2008). Estado da arte da entomotoxicologia forense com ênfase em díptera (insecta) e estudo preliminar da ação da cafeína no ciclo de vida de *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) sob condições de laboratório.
- Stankiewicz, M., Dąbrowski, M., & De Lima, M. E. (2012). Nervous system of *Periplaneta americana* cockroach as a model in toxicological studies: a short historical and actual view. *Journal of toxicology*, 2012.
- Toscano, L. C., Calado-Filho, G. C., Cardoso, A. M., Maruyama, W. I., & Tomquelski, G. V. (2012). Impacto de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho safrinha cultivado em Cassilândia e Chapadão do Sul, MS. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, 79(2), 223-231.
- Wu, M. N., Ho, K., Crocker, A., Yue, Z., Koh, K., & Sehgal, A. (2009). The effects of caffeine on sleep in *Drosophila* require PKA activity, but not the adenosine receptor. *Journal of Neuroscience*, 29(35), 11029-11037.
- Verlinden, H. (2018). Dopamine signalling in locusts and other insects. *Insect biochemistry and molecular biology*, 97, 40-52.
- Wink, M. (1998). Chemical ecology of alkaloids. In *Alkaloids* (pp. 265-300). Springer, Boston, MA.